UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1952-1953 — N° 100

LES IMMUNISATIONS FŒTO-MATERNELLES DANS LE SYSTÈME DE GROUPE SANGUIN A. B. O.

RECHERCHES BIOLOGIQUES ET CLINIQUES

Travail de la Clinique Obstétricale
et du Centre Régional de Transfusion Sanguine de Bordeaux

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 6 Mai 1953

PAR

Gérard-Charles-Fernand DESCAMP

Né à Paris (Seine), le 13 Avril 1923

Examinateurs de la Thèse :

MM. RIVIÈRE, professeur ..... *Président*
TAYEAU, professeur ..... *Juges*
CHASTRUSSE, agrégé ..... *Juges*
FAUGÈRE, agrégé ..... *Juges*

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1953

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1952-1953 — N° 100

LES IMMUNISATIONS FŒTO-MATERNELLES DANS LE SYSTÈME DE GROUPE SANGUIN A. B. O.

RECHERCHES BIOLOGIQUES ET CLINIQUES

Travail de la Clinique Obstétricale
et du Centre Régional de Transfusion Sanguine de Bordeaux

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 6 Mai 1953

PAR

Gérard-Charles-Fernand DESCAMP

Né à Paris (Seine), le 13 Avril 1923

Examinateurs de la Thèse :

MM. RIVIÈRE, professeur..... *Président*
TAYEAU, professeur..... .....
CHASTRUSSE, agrégé..... *Juges*
FAUGÈRE, agrégé.....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1953

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.
DOYEN : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, LABAT, CHARRIER, DUBREUIL, MACHEBŒUF, CRUCHET.

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	CREYX / BROUSTET
Clinique chirurgicale	PAPIN / MASSÉ
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE
Clinique gynécologique	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY
Anatomie	DUFOUR
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIÉCHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLÉE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	MESNARD
Matière médicale	GOLSE
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN
Zoologie et parasitologie	SIGALAS

	MM.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE
Clinique des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	N...

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. PERRENS (Maladies mentales), BLANQUET (Physique pharmaceutique).

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Parasitologie	PAUTRIZEL
Physiologie	Mlle ROUGIER
Bactériologie	MOUSTARDIER
Anatomie pathologique	LÉGER
Anatomie	RIGAUD

	MM.
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER / QUILICHINI
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX
Biochimie médicale	NEUZIL
Pathologie expérimentale	FAURE

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	DUBARRY / F.-J.TRAISSAC / BERGOUIGNAN / LENG-LÉVY / LAVIGNOLLE / MORETTI
Chirurgie générale	LAUMONIER / CHAVANNAZ / VILLAR / TINGAUD / DEPAULIS

	MM.
Obstétrique	CHASTRUSSE / FAUGÈRE
Ophtalmologie	BESSIÈRE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'ÉPÉE
Electro-radiologie	LACHAPÈLE
Odonto-stomatologie	BENOIT
Urologie	LANGE

AGRÉGÉ LIBRE :

M. MAHON (Obstétrique).

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	DUFOUR
Accouchements	CHASTRUSSE
Puériculture	VERGER / PÉRY
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI / COUSTOU
Anatomie	N...

	MM.
Cryptogamie	LAUBIE
Pharmacie galénique	N...
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER / VILLAR
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA FEMME

A MA MARRAINE

A MA GRAND'MÈRE

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS MES AMIS

A LA MÉMOIRE DU DOCTEUR Y.-L. LE CARRER

MÉDECIN-COMMANDANT DES TROUPES COLONIALES

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. MOULINIER

MÉDECIN ASSISTANT

DU CENTRE RÉGIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE DE BORDEAUX

En témoignage de notre reconnaissance pour sa bienveillance et les précieux conseils qu'il nous a toujours prodigués.

A MONSIEUR LE DOCTEUR G. PENAUD

EX-CHEF DE CLINIQUE D'UROLOGIE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE BORDEAUX

En témoignage de notre gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR L. MASSÉ

PROFESSEUR DE CLINIQUE CHIRURGICALE

CHIRURGIEN DES HÔPITAUX

DIRECTEUR DU CENTRE RÉGIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE

ASSOCIÉ NATIONAL DE L'ACADÉMIE DE CHIRURGIE

MEMBRE DU COMITÉ FRANÇAIS
DE L'ASSOCIATION INTERNATIONALE DE CHIRURGIE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

CHEVALIER DE L'ORDRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE

Nous lui adressons toute notre respectueuse gratitude pour l'aide qu'il nous a apportée pendant notre présence au Centre Régional de Transfusion Sanguine de Bordeaux.

A NOS MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

ET DES HOPITAUX DE BORDEAUX

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ P. MAHON

MÉDECIN ACCOUCHEUR DES HÔPITAUX

OFFICIER D'ACADÉMIE

Nos trois années passées près de lui furent pleines d'enseignement, sans qu'il en ait exclu les marques de sympathie.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. MAGENDIE

PROFESSEUR DE CLINIQUE GYNÉCOLOGIQUE

CHIRURGIEN DES HÔPITAUX

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

CROIX DE GUERRE

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

En témoignage de notre respectueuse gratitude.

A NOS JUGES :

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ G. FAUGÈRE

MÉDECIN ACCOUCHEUR DES HÔPITAUX

Qui nous a toujours guidé dans le domaine de l'obstétrique, par ses conseils éclairés et son appui amical.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ CHASTRUSSE

ASSISTANT D'OBSTÉTRIQUE DES HÔPITAUX

Avec toute la reconnaissance que nous lui devons pour son enseignement pendant notre stage de compétence.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR F. TAYEAU

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

OFFICIER D'ACADÉMIE

Qui a bien voulu s'intéresser à notre travail, accepter de faire partie de notre jury de thèse.

Qu'il soit assuré de notre vive et respectueuse reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. RIVIÈRE

PROFESSEUR DE CLINIQUE D'ACCOUCHEMENTS

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

CROIX DE GUERRE

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

COMMANDEUR DE L'ORDRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude pour l'enseignement que nous lui devons par notre séjour dans son service, pour l'intérêt familial qu'il nous a toujours porté et pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant la présidence de notre thèse.

LES IMMUNISATIONS FŒTO-MATERNELLES
DANS LES SYSTÈMES DE GROUPE SANGUIN A. B. O.

INTRODUCTION

« L'herbe ne pousse plus sur le chemin qui conduit de l'Hôpital au Laboratoire. »

Victor PACHON.

(Leçon inaugurale du cours de physiologie, faite à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux, le 12 mars 1912.)

Au cours de notre stage de compétence à la Clinique obstétricale de la Faculté de Médecine de Bordeaux, sur l'initiative de M. le Professeur Marc RIVIÈRE, nous avons apporté notre contribution à l'organisation du test Rh prénatal dans ce service, en liaison avec le Centre régional de transfusion sanguine de Bordeaux. C'est ainsi que nous nous sommes aperçu que nombreux étaient les cas pouvant être cliniquement suspects d'immunisation fœto-maternelle, mais qu'ils ne trouvaient pas leur justification dans les incompatibilités Rhésus. Cette constatation nous a incité à chercher dans les incompatibilités du système groupal A-B-O la cause possible d'accidents fœtaux ou néo-nataux. En effet, les grossesses incompatibles anti-A ou anti-B, au cours desquelles une mère du groupe O (zéro), du groupe B ou du groupe A porte un fœtus respectivement du groupe A ou du groupe B, ont fait l'objet de nombreux travaux depuis la connaissance des immunisations anti-Rh. Mais,

même avant cette « ère immunologique », certains auteurs avaient suggéré la possibilité d'accidents fœtaux en rapport avec les groupes A-B-O.

Dienst [9], en 1905, fut le premier à remarquer que le sang maternel pouvait, dans certains cas, contenir des agglutinines anti-A ou anti-B incompatibles avec les hématies fœtales; il avait trouvé que le titre de ces agglutinines était souvent plus élevé au cours de la semaine qui suivait l'accouchement qu'au cours de la grossesse. En 1910, Murray [24] pensait que les agglutinines et les hémolysines « produites » par le fœtus pouvaient être la cause de l'éclampsie. Mac Quarrie [16], quelques années plus tard, en 1923, constatait une incompatibilité fœto-maternelle portant sur les groupes sanguins dans 70 % des cas de toxémie gravidique (étude portant sur 180 cas). Des constatations semblables furent faites la même année par Gruzhit [11] et par Ottenberg [25], puis par Allen [1], en 1926.

Les premières suggestions pathogéniques concernant le rôle des incompatibilités de groupes sanguins dans les érythroblastoses fœtales furent dues à Hirszfeld [12] et à Paroli [26], en 1928. Puis, en 1936, Johnsson [14] souligna de nouveau le fait que les agglutinines maternelles anti-A ou anti-B augmentaient considérablement quand les hématies fœtales étaient incompatibles avec le sang maternel. Enfin, en 1938, Darrow [7], faisant une étude des cas d'érythroblastose publiés jusqu'alors, concluait que la meilleure explication étiologique se trouvait être dans une réaction *antigène - anticorps*.

En 1941, grâce aux travaux conjugués de Wiener [37], Levine, Burnham, Katzin et Vogel [15], la découverte du facteur Rhésus et de son rôle dans « l'érythroblastose fœtale » ouvrait un chapitre nouveau de la pathologie : celui des maladies du fœtus et du nouveau-né, liées à une iso-immunisation maternelle.

Le mécanisme de cette iso-immunisation due à l'antigène

Rhésus ne tardait pas à faire naître dans l'esprit de certains immunologistes la notion que toute grossesse était *hétéro-spécifique* et donnait lieu à un *conflit fœto-maternel*. Ce conflit n'aboutirait à une immunisation effective que dans la mesure où l'antigène fœtal serait suffisamment puissant, au point de vue immunologique, pour engendrer la production d'un anticorps *immun* toxique.

Les globules rouges humains contiennent de très nombreuses substances douées de propriétés antigéniques, tels les agglutinogènes A et B qui déterminent les groupes sanguins du système sanguin A-B-O. Mais il en existe bien d'autres : les antigènes Rhésus, Kell, Lewis, Duffy, Lutheran, etc. Si l'iso-immunisation anti-Rh est relativement fréquente en race blanche, cela provient, d'une part, de la répartition Rh-positif (85 p. 100), Rh-négatif (15 p. 100), facilitant le hasard des ménages incompatibles et, d'autre part, de la force antigénique de cet agglutinogène. L'immunisation anti-Kell serait encore plus fréquente si la distribution K-positif, K-négatif était la même que celle du facteur Rhésus, car l'antigène Kell est plus antigénique encore que l'antigène Rhésus. Mais la répartition génétique des types sanguins Kell-positif, Kell-négatif limite l'incidence de telles immunisations : 90 % des individus sont dépourvus de l'antigène Kell (Race et Sanger [29]).

Dans le cas des facteurs antigéniques A et B, toutes les conditions d'immunisation se trouvent réunies : haut pouvoir antigénique et distribution sensiblement égale des groupes O (zéro), d'une part, et A et B, d'autre part. Cependant, il n'apparaît pas de manifestation clinique du type maladie hémolytique du nouveau-né, très fréquente, due à l'antigène A et B. Nous avons pensé que les difficultés de dépistage de l'immunisation A-B-O en étaient pour une grande part la cause. C'est pourquoi nous nous sommes attaché, dans ce travail, à la recherche d'un *critère biologique de l'immunisation A-B-O*. Actuellement, les techniques immunologiques sont toujours en pleine évolution, et

les rapports qui peuvent exister entre les immunisations A-B-O et les accidents fœtaux ou néo-nataux sont encore mal définis. Nous avons tenté de faire le bilan des connaissances acquises dans ce domaine, tant au point de vue biologique qu'au point de vue clinique.

Cette étude a pu être menée à bien grâce à l'aide efficace et à la grande compréhension des Chefs de service de la Clinique obstétricale de la Faculté de Médecine de Bordeaux, d'une part, de la Maternité de l'Hôpital Pellegrin, d'autre part, et, enfin, du Centre régional de transfusion sanguine de Bordeaux.

Nous ne saurions trop témoigner notre gratitude à tous ceux qui nous aidèrent dans ce travail, et, en premier lieu, à M. le Professeur M. Rivière qui nous a guidé constamment dans nos études et nous témoigne, depuis trois ans, un intérêt dont nous sommes honoré; à M. le Professeur agrégé Mahon, dont l'esprit critique et les conseils nous ont été toujours très précieux; à M. le Professeur L. Massé, qui nous a permis d'effectuer au Centre de transfusion toutes les recherches qui constituent ce travail; à M. le Docteur J. Moulinier, qui nous inspira cette thèse et dont la sollicitude et la bienveillance à notre égard nous ont toujours été particulièrement précieuses.

Nous remercions, enfin, nos collaborateurs de tous les jours, nos camarades du Laboratoire d'Hormonologie de la Clinique osbtétricale, nos camarades de stage de compétence, ainsi que Mesdames les Maîtresses sages-femmes et leurs assistantes, tout le personnel du Centre de transfusion, et, en particulier, M^lles^ F. Bonnard et J. Carmouze pour leur contribution technique, et M^lle^ F. Chevalier pour sa contribution « linguistique », ainsi que M^lle^ M. Salgue.

CHAPITRE PREMIER

LES CRITÈRES BIOLOGIQUES DE L'IMMUNISATION MATERNELLE DANS LE SYSTÈME DE GROUPE A. B. O.

DIENST (1905) observait, un des premiers, une élévation du taux des *agglutinines régulières* anti-A ou anti-B, après l'accouchement. JOHNSSON (1936) faisait les mêmes constatations et, récemment encore, certains auteurs attribuaient les accidents d'immunisation dans le système de groupe A-B-O à un taux exceptionnellement élevé des agglutinines régulières anti-A ou anti-B dans le sérum maternel. *Hyper-immunisation ?* Non, car, en réalité, ce ne sont pas les agglutinines régulières anti-A ou anti-B qui sont la cause des manifestations pathologiques de la maladie hémolytique fœto-néo-natale, mais les *anticorps immuns*. En effet, WIENER [35] a montré, dès 1946, que le placenta n'était perméable que vis-à-vis des *anticorps immuns* « *incomplets* ». La taille des molécules des anticorps immuns, plus petite que celle des agglutinines, permettrait un passage plus facile pour les premiers. De plus, il a été montré, au cours de récentes recherches sur les maladies hémolytiques d'origine immunologique, que *seul l'anticorps immun pouvait avoir un caractère pathologique :* tel est le cas des accidents hémolytiques survenant à la suite de l'injection intraveineuse à un receveur de groupe A de plasma ou de sérum provenant d'un sujet du groupe O (zéro), immunisé anti-A (DAUSSET, VIDAL [8]).

I. — CARACTÈRES BIOLOGIQUES DES ANTICORPS IMMUNS

A. — Ce sont des anticorps « incomplets »

Ils sont dits « incomplets » parce que, mis en présence d'hématies portant l'antigène homologue, ils sont incapables d'en déterminer l'agglutination, si la réaction est effectuée en « milieu salin ». Mais cette réaction d'agglutination survient lorsqu'elle est effectuée en « milieu albumineux ». Dans ce cas, le milieu albumineux semble apporter un élément sérologique indispensable appelé par Wiener [40] *conglutinine*. Cette « conglutinine » serait le complément, l'activateur de l'anticorps immun, sans lequel cet anticorps demeure « incomplet », inactif.

B. — Ce sont des anticorps « bloquants »

Ce caractère « bloquant » est lié au caractère « incomplet ». Sous sa forme incomplète, l'anticorps immun se fixe sur les hématies sensibles; cette fixation reste inapparente et n'entraîne en particulier aucune réaction d'agglutination par le fait même que cet anticorps est incomplet. Mais cette réaction de fixation peut être révélée par des tests appropriés :

1° *Blocking test (Wiener [38])*. — La fixation de l'anticorps incomplet sur les hématies empêche l'action ultérieure de l'agglutinine; ainsi, la réaction d'agglutination, attendue sous l'effet de l'agglutinine, ne se produit pas; cette réaction négative est révélatrice de l'action bloquante de l'anticorps immun.

2° *Test de Coombs, Mourant et Race* [4]. — Dans ce test, l'agent révélateur est un sérum anti-globuline humaine. Cette réaction est basée sur le principe suivant : l'anticorps immun est une *globuline;* le sérum anti-globu-

line provenant d'un animal (Lapin) immunisé contre la globuline humaine est capable de précipiter ces globulines-anticorps et, par là, entraîner la précipitation ou l'agglutination des hématies antérieurement « bloquées » ou « sensibilisées ».

C. — Les anticorps immuns sont « thermostables »

Alors que l'agglutinine régulière est détruite par chauffage de dix minutes à 65°, dans les mêmes conditions l'anticorps incomplet conserve ses mêmes propriétés biologiques.

D. — Amplitude thermique

Contrairement à l'agglutinine régulière, l'anticorps immun est plus actif lorsque la température s'élève et devient voisine de + 37°, alors que l'agglutinine est plus active entre + 4° et + 10°.

E. — L'anticorps immun présente des « caractères hémolytiques »

In vitro, dans certaines conditions, le sérum provenant de sujet immunisé anti-A ou anti-B peut déterminer l'hémolyse des hématies correspondantes (Wiener [39], Dacie [6]). La question reste entière de savoir si l'hémolyse est un caractère propre à l'anticorps immun ou si elle est due à une hémolysine, élément distinct de l'anticorps. Cette dernière hypothèse, basée sur des études électrophorétiques [5], semble devoir être acceptée.

Ces divers caractères des anticorps immuns permettent de les différencier des agglutinines régulières. Dans le cas des immunisations anti-A et anti-B, le diagnostic biologique devra donc porter sur ces critères, en évitant les interférences dues aux agglutinines régulières, qui pourraient

être qualifiées dans ces recherches d'*agglutinines parasites*. Les tests de laboratoire devront donc essayer d'éliminer, dans un premier temps, l'agglutinine anti-A ou anti-B régulière, « parasite », pour faciliter la recherche et l'étude de l'anticorps immun, seul élément pathologique.

Diverses techniques ont été proposées :

— Les unes cherchant à éliminer l'agglutinine régulière pour ne laisser actif que l'anticorps incomplet :

a) Neutralisation partielle par substances groupes;

b) Destruction par le chauffage.

- Les autres laissant subsister l'agglutinine régulière, mais cherchant à mettre en évidence les caractères propres aux anticorps immuns :

a) Inversion de l'optimum thermique;

b) Recherche des hémolysines.

II. - PRINCIPES GÉNÉRAUX DE DÉTECTION DES ANTICORPS IMMUNS ANTI-A ET ANTI-B

A. — Méthodes basées sur l'élimination de l'agglutinine régulière

1° *Neutralisation des agglutinines par antigènes solubles*

a) « *Substances groupes* » *de Witebsky*. — Les « substances groupes » de Witebsky sont des solutions aqueuses d'extrait d'estomac de Porc et de Cheval macéré.

En 1948, Witebsky [41] a montré qu'un sérum provenant d'un sujet immunisé anti-A ou anti-B, traité par « substances groupes A-B », perdait le pouvoir d'agglutiner les globules A ou B en suspension saline, mais conservait son pouvoir agglutinant vis-à-vis de ces mêmes globules mis en suspension dans leur propre sérum. L'agglutination des hématies en milieu colloïdal étant due aux anticorps incomplets, il semble logique d'admettre que l'agglutinine anti-A ou anti-B a été inhibée par la « substance groupe »,

alors que l'anticorps incomplet a conservé ses propriétés.

b) *Salive des sujets « sécréteurs A et B » (Mollison [20]).* — Parmi les sujets appartenant aux groupes sanguins A et B, il en est qui présentent le caractère « sécréteur ». Dans la salive de ces individus, on peut déceler l'antigène A ou l'antigène B sous forme soluble. Mollison [20] a montré qu'une neutralisation des agglutinines anti-A et anti-B était possible, tout en respectant les anticorps immuns correspondants, en mélangeant à parties égales la salive de ces sujets sécréteurs et le sérum pathologique.

2° *Destruction des agglutinines par chauffage*

Deux techniques ont été proposées :

a) *Technique de Wiener* [*34*]. — On chauffe le sérum suspect non dilué à 63° pendant trente minutes;

b) *Technique de Boorman et Dodd* [*3*]. — On chauffe le sérum suspect dilué de moitié à 75° pendant vingt minutes.

Dans l'un et l'autre cas, on constate la disparition de l'agglutinine anti-A ou anti-B et la persistance de l'anticorps immun anti-A ou anti-B.

Quel que soit le moyen utilisé pour détruire les agglutinines régulières A et B, le titrage des anticorps incomplets se fait par la méthode des dilutions dont la technique en milieu albumineux sera exposée plus loin (page 19).

B. — Méthodes basées sur les caractères différentiels des agglutinines et des anticorps immuns

1° *Inversion de l'optimum thermique (Millet et Hubinont [19])*

Cette méthode est basée sur le fait que les agglutinines sont plus actives à + 4°, alors que les anticorps immuns ont leur maximum d'activité à + 37°.

2° *Réaction d'hémolyse (Dacie [6])*

Sous certaines conditions de *p*H, le sérum d'individus immunisés anti-A ou anti-B est capable d'hémolyser les hématies A ou B. On a pu montrer (Ervin et Young, 1950 [10]) que cette réaction d'hémolyse ne pouvait avoir lieu qu'en présence de complément qu'elle fixait.

CHAPITRE II

ESSAIS DE DÉPISTAGE SYSTÉMATIQUE DES IMMUNISATIONS ANTI-A ET ANTI-B

I. — EXPOSÉS DES TECHNIQUES. — CRITIQUES

Au cours de nos recherches, nous avons étudié la valeur des différentes méthodes proposées pour dépister les anticorps immuns anti-A et anti-B. Ces méthodes, dont nous avons exposé le principe précédemment, sont au nombre de cinq :

1° *Méthode de Witebsky.* — Dénaturation de l'agglutinine régulière au moyen de substances groupes, ne devant laisser subsister que l'anticorps immun décelable soit en milieu albumineux, soit par test de Coombs indirect.

2° *Méthode de Wiener.* — Destruction de l'agglutinine régulière par chauffage du sérum suspect à 63° pendant une demi-heure, ne devant laisser subsister que l'anticorps immun décelable soit en milieu albumineux, soit par test de Coombs indirect.

3° *Méthode de Boorman et Dodd.* — Destruction de l'agglutinine régulière par chauffage du sérum suspect à 75° pendant vingt minutes, ne devant laisser subsister que l'anticorps immun décelable soit en milieu albumineux, soit par « blocking test »,

4° *Méthode de Hubinont.* — Inversion de l'optimum thermique permettant de différencier les caractères biologiques particuliers des agglutinines et des anticorps immuns.

5° *Méthode de Dacie.* — Recherche des hémolysines anti-A et anti-B.

Nous exposerons pour chacune de ces méthodes la technique que nous avons suivie et les critiques que leur réalisation ou les résultats qu'elles nous ont fournis nous ont suggérées.

Ces critiques furent basées avant tout sur l'idée directrice qui nous a inspiré ce travail : celle de la *recherche d'un test de routine* d'exécution facile, d'interprétation aisée et dont la valeur aurait pu guider sans ambiguité le clinicien.

Pour toutes nos recherches, les sérums suspects ou expertisés provenaient des échantillons de sang prélevés systématiquement chez les femmes enceintes ou récemment accouchées à la Clinique obstétricale de la Faculté de Médecine de Bordeaux (Service du Professeur M. Rivière). Ces échantillons de sang étaient prélevés pour le test Rh prénatal dont l'exécution est en vigueur dans ce Service.

A. — Méthode de Witebsky

1° *Technique*

a) *Préparation du sérum suspect.* — On ajoute au sérum à examiner des quantités équivalentes de substances groupes A et B (*), soit, dans un tube à hémolyse, V gouttes de sérum et V gouttes de substances groupes. On laisse le mélange une demi-heure à la température du laboratoire.

b) *Préparation des globules tests.* — On fait deux suspensions globulaires à 2 p. 100 (hématies lavées A_1 pour la

(*) Nous avons utilisé les « substances groupes » des Laboratoires Sharp et Dohme, Philadelphia (U. S. A.).

recherche des anticorps incomplets anti-A; hématies lavées B pour la recherche des anticorps incomplets anti-B), l'une en sérum physiologique, l'autre en albumine bovine (solution d'albumine bovine à 20 p. 100).

c) *Titrage des agglutinines anti-A et anti-B.* — Ce titrage est effectué d'une part sur le sérum frais, d'autre part sur le sérum neutralisé par substances groupes. Dans ce but, on fait des dilutions successives : 1/2, 1/4, 1/8, etc. en sérum physiologique de l'un et de l'autre de ces sérums. Pour déterminer la présence des agglutinines, on utilise les suspensions globulaires correspondantes (A_1 ou B), faites en sérum physiologique. A II gouttes de sérum ou de dilution de sérum on ajoute II gouttes de la suspension globulaire. Le temps d'incubation est de deux heures à 37°.

d) *Détection et titrage des anticorps incomplets.* — La technique des dilutions et le test d'agglutination sont les mêmes mais, dans tous les cas où était utilisé le sérum physiologique, il est maintenant utilisé une solution à 20 p. 100 d'albumine bovine. C'est-à-dire que les dilutions du sérum frais et du sérum neutralisé sont faites avec l'albumine bovine et les globules rouges sont suspendus dans ce même milieu (albumine à 20 p. 100). Les hématies A_1 ou B, utilisées pour le titrage des agglutinines et pour le titrage des anticorps incomplets sont les mêmes.

e) *Interprétation des résultats.* — 1° Les titrages effectués sur les sérums *frais* (titrage en milieu salin ou titrage en milieu albumineux) ne présentent, en principe, aucune différence notable. En effet, l'agglutinine régulière, détectée en milieu salin, est en même temps détectée en milieu albumineux. Dans quelques cas, on peut mettre en évidence une augmentation du titre décelé en milieu albumineux par rapport au titre décelé en milieu salin. Dans ces cas, cette différence de titre est due à la superposition d'un anticorps incomplet (que le milieux albumineux détecte) à l'agglutinine régulière; l'anticorps incomplet ayant alors un titre plus élevé que l'agglutinine.

2° Le titre de l'agglutinine décelé en milieu salin avec le sérum *neutralisé* est toujours très bas. La plupart du temps, aucune trace ne peut être mise en évidence, si la neutralisation par substances groupes a été correcte. Ce titrage représente un témoin (troisième titrage). Le quatrième titrage, effectué en milieu albumineux, sur le sérum neutralisé, met en évidence l'anticorps incomplet s'il existe :

S'il y a un *anticorps immun* anti-A ou anti-B, le titre décelé doit être nettement supérieur au titre décelé en milieu salin sur sérum neutralisé; il peut être inférieur au

TABLEAU I

RECHERCHE DES ANTICORPS IMMUNS ANTI-A SELON LA MÉTHODE DE WITEBSKY

DILUTIONS	I. — SÉRUM NON NEUTRALISÉ		II. — SÉRUM NEUTRALISÉ PAR « SUBSTANCES GROUPES » A PARTIES ÉGALES	
	Dilutions de sérum en sérum phys. avec des suspen. glob. A^1 à 2 p. 100 en sérum phys. (1)	Dilutions de sérum en album. bovine à 20 p. 100 avec des suspen. glob. A^1 à 2 p. 100 en albu. bovine à 20 p. 100. (2)	Dilutions de sérum en sérum phys. avec des suspen. glob. A^1 à 2 p. 100 en sérum phys. (3)	Dilutions de sérum en album. bovine à 20 p. 100 avec des suspen. glob. A^1 à 2 p. 100 en albu. bovine à 20 p. 100. (4)
2	++++	++++	—	++++
4	++++	++++	—	++++
8	++++	++++	—	++++
16	++++	++++	—	+++
32	++++	++++	—	+
64	+++	++++	—	—
128	—	+	—	—
256	—	—	—	—

N. B. — Le sérum examiné, parfaitement neutralisé (3), possède un anticorps immun anti-A (4), au titre de 32 unités.

titre décelé en milieu albumineux sur sérum frais. Cette dernière différence peut être due soit au fait que le titre de l'anticorps immun est plus faible que le titre de l'agglutinine régulière, soit au fait que la substance groupe a détruit en partie l'anticorps immun.

— S'il n'y a pas d'*anticorps immun*, le titre décelé en milieu albumineux sur le sérum neutralisé est le même que celui décelé sur ce même sérum en milieu salin.

Nous avons effectué de nombreux tests basés sur cette méthode dont nous reproduisons (tableaux I et II) les résultats obtenus avec deux sérums caractéristiques. Le tableau I montre les titrages effectués sur un sérum pathologique.

TABLEAU II

LE SÉRUM EXAMINÉ NE POSSÈDE PAS D'ANTICORPS IMMUN ANTI-A

DILUTIONS	I. — SÉRUM NON NEUTRALISÉ		II. — SÉRUM NEUTRALISÉ PAR « SUBSTANCES GROUPES » A PARTIES ÉGALES	
	Dilutions de sérum en sérum phys. avec des suspen. glob. A^1 à 2 p. 100 en sérum phys. (1)	Dilutions de sérum en album. bovine à 20 p. 100 avec des suspen. glob. A^1 à 2 p. 100 en albu. bovine à 20 p. 100. (2)	Dilutions de sérum en sérum phys. avec des suspen. glob. A^1 à 2 p. 100 en sérum phys. (3)	Dilutions de sérum en album. bovine à 20 p. 100 avec des suspen. glob. A^1 à 2 p. 100 en albu. bovine à 20 p. 100. (4)
2	++++	++++	—	—
4	++++	++++	—	—
8	++++	++++	—	—
16	+++	+++	—	—
32	++	++	—	—
64	+	+	—	—
128	—	±	—	—
256	—	—	—	—

N. B. — En (1) et (2) on détecte seulement l'agglutinine.

Le tableau II montre les titrages effectués avec un sérum ne possédant pas d'anticorps immun.

2° *Critiques*

Beaucoup de critiques peuvent être formulées à l'encontre de cette méthode :

a) Difficulté de réalisation : chaque test exige quatre titrages pour détecter un anticorps immun. La réalisation de ces titrages est d'une exécution délicate et très lente. En conséquence, une telle méthode ne peut être utilisée dans un dépistage systématique;

b) Si l'anticorps immun est très faible, la neutralisation systématique du sérum à parties égales avec les substances groupes risque de détruire complètement cet anticorps;

c) L'expérience nous a montré que l'albumine bovine à 20 p. 100 était un mauvais milieu de détermination de l'anticorps immun anti-A et anti-B. Nous avons essayé d'utiliser les autres milieux albumineux ou « conglutinants », selon l'expression de Wiener, utilisés dans les réactions de recherches des anticorps immuns anti-Rh. Comme l'ont fait déjà remarquer certains auteurs (Van Loghem [33]), il faut éviter d'utiliser comme milieu de dilution et de suspension le sérum humain provenant de sujets du groupe A B (sérum neutre), car ce sérum, s'il ne renferme aucune agglutinine « parasite », est susceptible de posséder à l'état soluble les antigènes A et B. Il en serait de même si on utilisait un sérum provenant d'un sujet du groupe A ou B dans la recherche correspondante d'anticorps anti-A ou anti-B. Il nous est apparu que le *Dextran* qui a été proposé par Bonnel [2] dans la détection des anticorps immuns anti-Rh donnait des réactions fortement positives et d'une lecture macroscopique facile (après centrifugation à 1.000 tours/minute pendant une minute) pour la détection des anticorps immuns anti-A ou anti-B.

B. — Méthode de Wiener

1° *Technique*

a) *Préparation du sérum suspect.* — Une partie du sérum à expertiser est chauffée au bain-marie à 63° pendant une demi-heure.

b) *Préparation des globules tests.* — Les suspensions globulaires sont effectuées comme précédemment (voir méthode de Witebsky).

c) *Titrage des agglutinines A et B.* — Ce titrage est effectué, d'une part, sur le sérum frais, d'autre part, sur le sérum dénaturé par le chauffage. Les dilutions sont faites, comme pour la technique de Witebsky, en sérum physiologique.

d) *Détection et titrage des anticorps incomplets.* — Aucune modification n'est apportée pour le titrage de ces anticorps qui est effectué en albumine bovine à 20 p. 100.

e) *Interprétation des résultats.* — L'interprétation des résultats de la méthode de Wiener est semblable à celle concernant la technique de Witebsky : le titrage, effectué en milieu salin sur le sérum chauffé, montre une disparition complète ou subtotale de l'agglutinine régulière et l'anticorps incomplet sera décelé dans les tubes correspondant aux dilutions de sérum chauffé.

Certains auteurs (Van Loghem [33]) ont complété la recherche des anticorps immuns par leur détection au moyen du sérum anti-globuline (test indirect de Coombs), sur les hématies mises en contact en milieu salin avec le sérum chauffé. Alors que ces hématies n'étaient plus agglutinées du fait de la suppression par le chauffage des agglutinines régulières, elles se révèlent ainsi sensibilisées par l'anticorps immun.

2° *Critiques*

Les mêmes critiques que nous avons déjà formulées à propos de la technique de Witebsky peuvent être émises vis-à-vis de la méthode de Wiener. C'est-à-dire : *difficulté de réalisation* à cause des nombreux titrages qu'elle nécessite; *risque de dénaturation complète* de l'anticorps immun faible; *milieu albumineux peu favorable* aux réactions d'agglutination de l'anticorps incomplet anti-A ou anti-B.

De plus, nous avons constaté, au cours de l'étude de sérum provenant d'un sujet immunisé anti-A et dont l'immunisation était indiscutable, que le test de Coombs, indirect au sérum anti-globuline, était incapable, du moins avec le réactif que nous avions en notre possession, de déceler une sensibilisation des hématies.

C. — Méthode de Boorman et Dodd

1° *Technique*

Cette méthode n'est qu'une variante de la méthode de Wiener : le chauffage du sérum est effectué à 75° pendant vingt minutes, au lieu de 63° pendant une demi-heure.

La préparation des globules tests, le titrage des agglutinines et des anticorps incomplets et l'interprétation des résultats sont les mêmes que dans la méthode de Wiener.

2° *Critiques*

Non seulement les critiques déjà formulées pour les diverses méthodes précédentes sont encore valables pour la méthode Boorman et Dodd, mais cette méthode présente des défauts qui lui sont propres : le chauffage du sérum suspect à 75° pendant vingt minutes entraîne sa coagulation. Certains auteurs (Mollison [20]) ont conseillé de diluer le sérum au quart pour éviter cette coagulation. Nous avons pu constater que, même dans ces conditions, à

partir de quinze minutes environ, il se formait un gel qui entraînait une difficulté supplémentaire de réalisation du test. De plus, il est bon de noter que de telles dilutions peuvent empêcher de détecter les anticorps faibles.

D. — Méthode de Hubinont

1° *Technique* (*)

a) *Préparation du sérum suspect.* — On prépare deux dilutions en sérum physiologique du sérum suspect (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, etc.).

b) *Préparation des globules tests.* — Les suspensions de globules A_1 ou B sont effectuées en sérum physiologique à la concentration de 2 p. 100.

c) *Titrage.* — A une partie du sérum ou de dilution de sérum est ajoutée une quantité équivalente de suspension globulaire. L'une des séries de dilutions est placée à + 4°, l'autre à + 37°.

d) *Interprétation des résultats.* — La lecture des agglutinations se fait une première fois au bout d'une demi-heure, et une deuxième fois au bout de deux heures.

Cette double lecture permet de déceler à quelle température s'effectue l'agglutination la plus rapide et la plus intense. Le tableau III montre le résultat d'une réaction où l'agglutination est plus forte et plus précoce à + 4°; par contre, à + 37°, le taux agglutinant du sérum soumis à l'examen était plus faible, aussi bien au bout d'une demi-heure qu'au bout de deux heures. Il s'agit dans ce cas de la réaction d'une agglutinine normale. Le tableau IV montre une réaction d'agglutination plus intense et plus rapide à 37°. Dans ce cas, le sérum suspect contient un anticorps immun (actif à 37°) superposé à l'agglutinine normale décelée à + 4°.

(*) Cette technique a été adaptée du travail du Docteur P. O. Hubinont : « Contribution à l'étude sérologique de l'iso-immunisation inter-humaine » [13].

TABLEAU III

Examen d'un sérum ne possédant pas d'anticorps immun

(Réactions d'agglutination sur des hématies A, selon la technique de Hubinont)

Dilutions		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Lecture après une demi-heure	4°	++++	++++	++++	++++	+++	+	(±)	—
	37°	++++	++++	+++	++	—	—	—	—
Lecture après deux heures	4°	++++	++++	++++	++++	+++	+	(±)	—
	37°	++++	++++	+++	(±)	—	—	—	—

TABLEAU IV

Examen d'un sérum possédant un anticorps immun anti-A

(Réactions d'agglutination sur des hématies A, selon la technique de Hubinont)

Dilutions		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Lecture après une demi-heure	4°	++++	++++	+++	++	+	—	—	—
	37°	++++	++++	++++	+++	++	—	—	—
Lecture après deux heures	4°	++++	++++	+++	+	—	—	—	—
	37°	++++	++++	++++	+++	+++	++	+	—

2° *Critiques*

La méthode de Hubinont est, avant tout, d'une lecture difficile, car elle est fonction en grande partie de l'interprétation personnelle des résultats d'agglutination. Dans de nombreux cas il est difficile d'affirmer que la réaction est plus forte à + 37° qu'à + 4°, car la différence ne peut jouer que sur un écart entre deux dilutions.

De plus, si l'anticorps incomplet est plus faible que l'agglutinine régulière, la réaction constatée à + 37° sera interprétée comme une réaction négative (son titre étant inférieur au titre de l'agglutinine régulière décelée à + 4°).

E. — Méthode de Dacie. — Recherche des hémolysines

Nous n'avons pas personnellement mis en œuvre cette technique, bien qu'elle puisse être jugée comme l'une des plus caractéristiques des anticorps pathologiques. Nous avons pensé qu'il s'agissait là d'un test beaucoup trop délicat (conditions de *p*H, conditions de stérilité, délai de lecture) pour entrer dans la routine d'un laboratoire de depistage systématique. Les premiers résultats obtenus par certains auteurs, et en particulier par Mendès de Léon [18], paraissent très séduisants.

II. — RÉSULTATS

Nous avons effectué la recherche des anticorps immuns anti-A ou anti-B de toutes les femmes appartenant au groupe O (zéro) ou B. Nous avons négligé dans cette épreuve systématique la recherche de l'anticorps immun anti-A chez les femmes du groupe A, du fait du pourcentage minime des sujets B et de la fréquence infime des incompatibilités B - anti-B. Cependant, dans quelques cas,

cette recherche a été effectuée, soit parce que les antécédents obstétricaux nous incitaient à établir le bilan immunologique de la malade, soit à titre de contrôle personnel.

A. — Résultats statistiques

261 sérums ont été étudiés.

Dans ces 261 cas, on relève :

101 primipares,
150 multipares.

Parmi les primipares, 9 d'entre elles ont eu une grossesse entachée d'accidents :

3 avortements entre deux et quatre mois environ,
2 morts et macérés,
2 accouchements prématurés,
2 morts néo-natales.

Parmi les multipares, 98 d'entre elles ont présenté des antécédents normaux :

43 deuxièmipares,
23 troisièmipares,
9 quatrièmipares,
8 cinquièmipares,
8 sixièmipares,
5 septièmipares,
2 huitièmipares.

52 d'entre elles ont présenté des antécédents pathologiques.

46 avortements entre deux et quatre mois et demi,
4 morts et macérés,
29 accouchements prématurés, entre six mois et et demi et huit mois,
9 morts néo-natales.

D'un autre côté, l'étude biologique de ces 261 cas a

décelé 33 sérums suspects, c'est-à-dire présentant un anticorps immun anti-A ou anti-B :

a) Dans 24 cas, cet anticorps fut décelé chez des femmes indemnes de tout antécédent pathologique;

b) Dans 9 cas cet anticorps pathologique était présent dans le sérum de femmes dont les antécédents cliniques étaient suspects. Les voici :

Observation I. — M^me^ D..., Ipare, II^e^ geste. Accouchement prématuré à six mois : mort-né. Groupe O, type Rh-positif. Présence d'anticorps immuns anti-A : 16 unités (Witebsky).

Observation II. — M^me^ M..., Igeste. Avortement spontané à trois mois. Groupe B, type Rh-positif.

Mari : groupe A, type Rh-positif.

Présence d'anticorps immuns anti-A : 16 unités (Witebsky) quatre mois après l'avortement.

Observation III. — M^me^ G..., VI^e^ geste, II^e^ pare. Groupe O, type Rh-positif.

Accouchement prématuré à sept mois et demi : enfant décédé deux heures après.

Accouchement normal : enfant vivant, bien portant.

Trois avortements successifs de un mois et demi, deux mois et trois mois.

Sixième grossesse actuelle : présence d'anticorps immuns anti-B : 64 unités au troisième mois (Hubinont).

Observation IV. — M^me^ F..., Ipare. Groupe O, type Rh-positif.

Accouchement prématuré à six mois : enfant décédé quelques heures après.

Présence d'un anticorps immun anti-A : 168 unités (Hubinont).

Observation V. — M^me^ D..., II^e^ pare, III^e^ geste. Groupe O, type Rh-positif.

Deux enfants vivants bien portants.

Avortement d'un mois et demi.

Présence d'anticorps immuns anti-B : 16 unités (Witebsky).

Observation VI. — Mme L..., Ipare, IIe geste. Groupe O, type Rh-positif.

Avortement de quatre mois.

Accouchement normal : enfant vivant bien portant.

Troisième grossesse actuelle : présence d'anticorps immuns anti-A : 128 unités (Witebsky), 64 unités (Hubinont).

Observation VII. — Mme M..., Ipare. Groupe O, type Rh-négatif.

Accouchement spontané à terme : enfant mort.

Présence d'un anticorps immun anti-A. Absence d'anticorps anti-Rh.

Observation VIII. — Mme D..., Igeste. Groupe O, type Rh-positif.

Menace d'avortement à deux mois et demi.

Présence d'anticorps immun anti-A : 16 unités (Witebsky).

Observation IX. — Mme L..., Igeste. Groupe O, type Rh-positif. B.-W. négatif.

Expulsion d'un mort et macéré au sixième mois.

Présence d'un anticorps immun anti-B : 128 unités (Witebsky), 512 unités (Hubinont).

D'un autre côté, parmi les 261 cas que nous avons eu à examiner, 29 d'entre eux nous laissaient supposer la possibilité d'une immunisation maternelle. Pourtant, dans ces cas, ni une immunisation anti-Rh, ni une immunisation anti-A ou anti-B ou de quelque autre nature que ce soit n'a pu être décelée. Il s'agissait d'observations dans lesquelles aucune autre cause de mort fœtale ou néo-natale n'a pu être mise en évidence (syphilis, traumatismes obstétricaux, malformations, dysgravidies, dysendocrinies, etc.).

B. — Interprétation

Les discordances que nous avons constatées entre les résultats cliniques et biologiques nous ont incité à étudier les rapports qui pouvaient exister entre les accidents

fœtaux ou néo-nataux, d'une part, et les processus immunologiques, d'autre part. Les résultats que nous avons exposés précédemment montrent que trois cas peuvent se produire :

— Ou bien il existe des antécédents pathologiques évoquant le rôle d'une immunisation maternelle, mais cette immunisation n'est pas confirmée biologiquement;

— Ou bien l'étude biologique révèle la présence d'un état d'immunisation maternelle, mais aucun accident clinique ne semble venir confirmer cet état sérologique;

— Ou bien la présence d'anticorps immuns anti-A ou anti- B coïncide avec des accidents pathologiques suspects.

1° *Présence d'antécédents pathologiques, absence d'anticorps immuns*

Dans l'état actuel de nos connaissances, le diagnostic d'une immunisation maternelle ne peut être posé avec certitude que grâce à la découverte dans le sérum maternel d'un anticorps immun. En effet, certains signes cliniques de la maladie hémolytique, ou plus exactement de la maladie « cyto-toxique » (Moulinier [17, 23]) du fœtus et du nouveau-né, pour reprendre l'expression de J. Moulinier, peuvent être communs à diverses affections toxiques d'origine endogène (syphilis, diabète). Ce n'est que par analogie avec les accidents caractéristiques dus aux incompatibilités anti-Rh que l'on peut soupçonner une femme enceinte d'immunisation. Parmi ces éléments caractéristiques, le syndrome hémolytique (ictère, anémie, érythroblastose, hépato-splénomégalie), survenant à la naissance, impose facilement le diagnostic d'une immunisation maternelle. Mais les accidents fœtaux (hydrops, rétention de fœtus mort) ne peuvent être rattachés au mécanisme immunologique que par la présence d'anticorps immuns dans le sérum maternel. Pourtant, la fréquence de tels accidents fœtaux en rapport avec un état d'immunisation

est telle qu'ils évoquent, la plupart du temps, en l'absence de toute autre notion pathogénique, un processus immunologique dû à un conflit antigène-anticorps.

Il en est ainsi dans 12 cas que nous avons relevés au cours de notre dépistage systématique. Pourtant, dans ces cas, nous n'avons pu mettre en évidence aucun anticorps immun et, en particulier, la recherche des anticorps immuns anti-A et anti-B s'est révélée négative. Est-ce à dire que ces accidents fœtaux ne sont pas en rapport avec un processus immunologique ? Nous pensons que ce mécanisme pathologique ne doit pas être exclu par le fait que nous n'avons pu déceler l'agent toxique. Il est très vraisemblable que nos moyens d'investigation sont encore insuffisants et ne sont peut-être même que très primitifs. Nous n'en voulons pour preuve que le fait suivant : au cours de toutes les recherches imunologiques qui sont effectuées dans les cas d'immunisation anti-Rh par exemple, le seul agent pathologique que les tests de laboratoire sont capables de mettre en évidence est l'agglutinine anti-Rh. Or, si la maladie hémolytique du nouveau-né a pour signe fondamental l'hémolyse intra-vasculaire, ce n'est que dans des cas très rares que quelques auteurs ont pu mettre en évidence *in vitro* l'activité hémolytique de l'anticorps anti-Rh. Dans l'immense majorité des cas, cet anticorps ne se montre, par les techniques usuelles, que doué d'un pouvoir agglutinant et non hémolysant. On peut donc affirmer que le laboratoire n'est en mesure de détecter qu'un des éléments du syndrome biologique. Le véritable agent pathologique reste à trouver.

L'histoire de la découverte des anticorps anti-Rh nous montre d'ailleurs un bel exemple de l'insuffisance des tests biologiques dans le domaine de l'immuno-hématologie moderne. En 1942, on ne connaissait alors que les tests de détection de l'agglutinine anti-Rh en milieu salin. C'est alors que Wiener découvrit le test de « conglutination » qui devait ouvrir la voie à la détection d'un nouveau type

d'anticorps : l'anticorps incomplet ou monovalent. Jusqu'en 1945, on croyait être ainsi en possession des tests de détection les plus sensibles, alors que l'on constatait que de nombreux cas de maladie hémolytique du nouveau-né n'étaient pas appuyés par la découverte de l'agent pathologique anti-Rh attendu. Coombs, Mourant et Race (1945) découvrent alors le test au sérum anti-globuline humaine. Cette réaction, plus sensible et plus délicate, vient encore confirmer le diagnostic clinique dans de nombreux cas. Puis, nouvelle étape, en 1947, Morton et Pickles [21] apportent à leur tour un nouveau test : le test à la trypsine qui permettra, dès lors, de déceler des anticorps jusque là inaccessibles par les techniques connues. Tout récemment (Congrès de Cambridge, 1951), Coombs a proposé un « super-test » au sérum anti-globuline humaine, doué d'une sensibilité encore plus grande que les tests antérieurement proposés. Le moment viendra, un jour, où enfin la détection de l'agent pathologique sera, dans tous les cas, assurée par une technique adaptée à la spécificité et aux caractères immuno-pathologiques de l'anticorps en cause.

2° *Présence d'anticorps immuns, absence d'antécédent pathologique*

Dans quelques cas (24 cas), les tests sérologiques ont mis en évidence la présence d'un anticorps immun anti-A ou anti-B. Dans ces cas, aucun antécédent pathologique ne laissait prévoir un état d'immunisation. Cette découverte biologique doit-elle être considérée comme un artéfact ou bien l'anticorps décelé par les méthodes précédemment décrites n'a-t-il aucun pouvoir pathogène ? Le problème ainsi posé est d'un intérêt capital, puisqu'il met en doute la valeur des tests de laboratoire proposés dans les immunisations fœto-maternelles.

a) *S'agit-il d'un artéfact ?* — Au cours de nos investigations, nous avons suivi la méthode de recherche suivante,

à part quelques cas dans lesquels nous avons systématiquement effectué toutes les réactions simultanément : la technique de Witebsky fut appliquée à titre de dépistage à tous les sérums expertisés. Tout résultat positif ou douteux fut soumis au test de Wiener.

Nous n'avons retenu comme sérums pathologiques que ceux pour lesquels une concordance existait entre ces divers résultats. Il semble donc que la notion d'interprétation personnelle ou faussement positive puisse être éliminée.

Une seconde objection pourrait être faite : celle de la valeur elle-même des tests proposés. Bien que les caractères biologiques généraux des anticorps immuns se trouvent respectés au cours de l'utilisation de ces méthodes (activité agglutinante en milieu colloïdal, thermostabilité), on est en droit de se demander si des sérums ainsi traités, soit par substances groupes A et B, soit par chauffage à 63° pendant une demi-heure, n'ont pas acquis des propriétés biologiques artificielles. Rappelons à ce sujet les travaux de Pons (Journées méditerranéennes de Transfusion sanguine, Nice, 11-13 mai 1951) [28], dont les recherches immunologiques ont mis en évidence la transformation des agglutinines (anticorps bivalents) en anticorps monovalents sous l'effet de certains agents chimiques (formaldéhyde).

D'autre part, on pourrait supposer que les substances groupes A et B sont susceptibles, à titre d'antigènes solubles, de ne neutraliser qu'une partie des agglutinines normales anti-A ou anti-B et laisseraient subsister dans le sérum une portion infime de ces agglutinines. Ces agglutinines « résiduelles » auraient un titre si faible que les réactions en milieu salin seraient négatives, mais ces mêmes agglutinines seraient capables d'être décelées par les tests en milieu colloïdal, car ces milieux renforceraient leur pouvoir. Dans ce dernier cas, ce n'est pas un anticorps incomplet monovalent pathologique qui serait mis en évidence, mais des traces d'agglutinines non pathogènes,

A l'appui de cette hypothèse, nous pouvons avancer les résultats (Van Loghem [33], Mollison [20]) obtenus avec des doses croissantes de substances groupes qui, à partir d'un certain seuil, inhibent totalement non seulement les agglutinines régulières, mais encore ce que les auteurs appellent les anticorps « incomplets ».

Le tableau V nous montre une telle inhibition : lorsqu'on mélange à parties égales (colonne 10/10) le sérum immun et les substances groupes A et B, la réaction d'agglutination n'est plus que très faiblement décelée en milieu salin (réaction positive +) alors qu'elle est encore très nettement positive en milieu colloïdal (réaction positive + + + +). Par contre, lorsque deux parties de substances groupes sont ajoutées à une partie de sérum (colonne 10/20), aucune réaction n'est plus mise en évidence.

Quant à l'action du *chauffage* (technique de Wiener), elle peut être soumise à des critiques semblables basées sur le fait qu'une partie des agglutinines peut être détruite à 63°, les réactions en milieu colloïdal étant susceptibles de mettre en évidence des agglutinines résiduelles encore inaltérées. Nous en voulons pour preuve la réaction de Boormann et Dodd qui, effectuée sur des sérums pathologiques, ne s'est jamais montrée, entre nos mains, positive. Ceci peut être expliqué par le fait que cette réaction est réalisée sur un sérum dilué de moitié et chauffé à 75° au lieu de 63°.

Nous avons effectué le test suivant, résumé dans le tableau VI. Un sérum pathologique anti-A, étiqueté comme tel par les réactions classiques, a été dilué de moitié et soumis à l'action du chauffage à 75° pendant vingt minutes. Un échantillon de ce sérum fut prélevé toutes les deux minutes au cours du chauffage. Chacun de ces échantillons fut testé vis-à-vis de globules A_1, en milieu salin et en milieu colloïdal.

Nous constatons qu'au bout de huit minutes la réaction en milieu salin devient négative, mais que cette réaction

TABLEAU V

ACTION DES DOSES CROISSANTES DE « SUBSTANCES GROUPES »
SUR UN SÉRUM PATHOLOGIQUE ANTI-A

Sérum anti-A immun	10/1	10/2	10/4	10/8	10/10	10/12	10/14	10/16	10/18	10/20
Substces groupes A-B										
Hématies A_1 — Suspension à 2 p. 100 en saline.	++++	++++	++++	+++	+	±	—	—	—	—
Hématies A_1 — Suspension à 2 p. 100 en milieu colloïd.	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—

TABLEAU VI

ACTION DE LA DURÉE DU CHAUFFAGE A 75°
SUR UN SÉRUM PATHOLOGIQUE ANTI-A

Prélèvements en cours du chauffage	2 min.	4 min.	6 min.	8 min.	10 min.	12 min.	14 min.	16 min.	18 min.	20 min.
Hématies A_1 — Suspension à 2 p. 100 en saline.	++++	++++	++	(±)	—	—	—	—	—	—
Hématies A_1 — Suspension à 2 p. 100 en milieu colloïd.	++++	++++	++++	++++	+++	++	(±)	—	—	—

reste encore positive, vis-à-vis de ces mêmes globules, en milieu colloïdal jusqu'à la douzième minute. De tels résultats sont bien troublants et laissent la voie ouverte à toutes les critiques. De plus, nous ne ferons que soulever l'hypothèse possible d'une dénaturation par la chaleur des anticorps bivalents (agglutinines) qui, sous l'effet d'un tel « traumatisme », peuvent subir une dégradation de leur structure et être artificiellement transformés en anticorps incomplets.

b) *L'anticorps décelé n'a-t-il aucun pouvoir pathogène ?* — Certains auteurs (Van Loghem [32]) ont déjà souligné la présence d'anticorps incomplets anti-A dans le sérum de femmes enceintes non sensibilisées par des grossesses ou des transfusions sanguines incompatibles. Ces anticorps sont même parfois susceptibles d'être mis en évidence dans le sérum de certains hommes n'ayant jamais été soumis à une transfusion sanguine incompatible (Dausset, Vidal [8]).

Il est probable que la présence de ces anticorps immuns est due à une vaccination antérieure avec des antigènes bactériens, car les cultures de germes (vaccin anti-tétanique, vaccin anti-diphtérique, vaccin anti-typhique, etc.) sont préparées avec de la peptone qui contient l'antigène A. Cet antigène, en effet, est présent dans de nombreuses substances avec lesquelles les êtres humains sont en contact d'une façon répétée. Il est possible aussi qu'une telle immunisation soit réalisée par la voie digestive (ingestion de substances antigéniques A). On peut expliquer la présence inoffensive d'un anticorps immun anti-A dans le sérum maternel vis-à-vis de l'antigène A porté par le fœtus par le fait que l'antigène, qui a donné naissance à cet anticorps immun, n'est pas doué de caractères strictement identiques à celui du fœtus. Aussi l'anticorps n'aura-t-il aucune action pathologique pour le fœtus. L'agent révélateur que nous possédons, l'hématie A_1, ne serait pas doué d'une spécificité

aussi stricte et serait capable d'entrer en liaison *in vitro* avec l'anticorps, alors que les groupements déterminants (*) de cet anticorps ne sont pas les répliques absolues du motif spécifique de l'antigène testé.

Dans le même ordre d'idée, l'expérience montre que les anticorps immuns anti-A réagissent seulement avec les hématies A_1 et non avec les hématies A_2. On sait que la subdivision en sous-groupes A_1 et A_2 du groupe sanguin A est due à la combinaison d'antigènes différents :

A_1 est composé des substances A + A_1;

A_2 est composé des substances A + 0 (zéro).

Puisque l'anticorps immun anti-A est incapable de réagir avec les globules A_2, c'est qu'il n'est doué d'aucune activité vis-à-vis de A ni de 0 (zéro). Il est donc spécifiquement anti-A_1. Or, l'antigène fréquemment rencontré dans la nature n'est vraisemblablement pas du type A_1, mais du type A.

Cette interprétation vient confirmer l'hypothèse que nous avons déjà avancée (voir p. 32), à savoir que l'anticorps révélé par les tests de laboratoire que nous possédons n'a que des rapports éloignés avec l'agent pathogène réellement responsable des accidents fœtaux ou néo-nataux dus aux incompatibilités antigéniques.

3° *Présence d'anticorps immuns, présence d'antécédents pathologiques*

Nous avons retenu comme antécédents pathologiques ceux qui pouvaient être évocateurs d'une maladie « cytotoxique » fœtale ou néo-natale. En réalité, dans aucun des 261 cas étudiés, nous n'avons pu mettre en évidence d'accidents néo-nataux typiques d'une maladie hémolytique (ictère ou anémie).

(*) « La spécificité de l'antigène se trouve étroitement liée à sa structure chimique et plus particulièrement à certaines fonctions polaires, les *groupes déterminants*, dont la disposition spatiale forme un motif spécifique qui donne à l'antigène son individualité immunologique. » (Pautrizel [27].)

Parmi les cas pathologiques, il en est certains qui relèvent très vraisemblablement d'une iso-immunisation, étant donné le contexte clinique ou biologique. Parmi ceux-ci, nous relevons deux cas de mort fœtale survenue après le sixième mois de grossesse et qui se sont accompagnés d'une rétention plus ou moins longue du fœtus *in utero*. Dans d'autres cas, les accidents pathologiques demeurent inexpliqués : il s'agit de morts fœtales précoces qui, si on s'en tient au schéma physio-pathologique des immunisations anti-Rh, étant survenues avant le sixième mois de grossesse, ne semblent pas devoir être rattachées à l'action toxique de l'anticorps immun.

Le fait d'avoir découvert dans de tels cas pathologiques un anticorps immun anti-A ou anti-B, permet-il de rendre responsable cet anticorps immun de la mort fœtale ? Etant donné les critiques soulevées précédemment, étant donné la valeur des tests biologiques ainsi que l'action pathogène de l'anticorps *in vitro*, il nous semble très difficile de répondre par l'affirmative à une telle question.

L'étude à laquelle nous nous sommes livré concernant six cas pathologiques dans lesquels une concordance parfaite semble lier le laboratoire et la clinique, et qui font l'objet de la troisième partie du présent mémoire, nous incite à penser que les cas décelés par notre étude systématique représentent des accidents immunologiques.

CHAPITRE III

ÉTUDE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DES CAS PATHOLOGIQUES

Notre travail a consisté à étudier, tant au point de vue clinique que biologique, l'histoire de six familles chez lesquelles le diagnostic d'immunisation fœto-maternelle anti-A ou anti-B a pu être porté avec certitude. Ces six cas ne rentrent pas dans le dépistage systématique que nous avons effectué, et ils ont été l'objet de recherches biologiques approfondies dont les résultats en seront exposés. Ces cas furent décelés dans les Services d'Obstétrique du Centre Hopitalier régional de Bordeaux, ou en clientèle privée (*).

Nous sommes en mesure d'affirmer que ces six cas relèvent d'une iso-immunisation dans le système de groupe sanguin A-B-O, parce que l'histoire clinique et l'étude biologique concordent parfaitement.

I. — ÉTUDE CLINIQUE

Nous exposerons tout d'abord l'histoire clinique de chacune de ces familles, de façon à en dégager les éléments caractéristiques.

(*) Nous tenons à remercier M. le Professeur agrégé Mahon, MM. les Docteurs Besse, Malgouyat et Lafon qui, par l'intermédiaire de M. le Docteur J. Moulinier, nous ont permis de suivre l'évolution des cas pathologiques faisant l'objet de ce travail.

A. — Observations

Observation I

M^me^ Du... Dans ce cas, le diagnostic clinique précéda le diagnostic biologique, en faveur d'une immunisation fœto-maternelle.

Nous fûmes appelé auprès d'un nouveau-né âgé de cinq jours, présentant un ictère tardif mais tenace, et un léger suintement hémorragique du cordon. Cet ictère franc est apparu après la naissance, accompagné d'une hypercoloration des urines. Pas d'hépatomégalie ni splénomégalie. Pas de signes nerveux. Enfant vigoureux, de 3 kilogrammes, qui prend bien le sein jusqu'au soir du sixième jour, moment à partir duquel il présente une respiration très irrégulière, coupée de phases d'apnée, avec petits cris fréquents, inspiratoires, et une tendance à rejeter la tête en arrière, attitude d'ailleurs facilement réductible.

Cet ensemble de manifestations pathologiques nous a fait suspecter une maladie hémolytique néo-natale, chez une troisièmigeste dont les antécédents obstétricaux ne présentent rien de notable, si ce n'est une première grossesse en 1948, terminée par un avortement de deux mois et demi (la deuxième grossesse donna naissance à un enfant vivant bien portant).

Les examens biologiques pratiqués d'urgence montrent :

Mère : groupe O (zéro), type Rh-négatif;

Père : groupe A_1 B, type Rh-positif;

Enfant : groupe A_1, type Rh-négatif.

La réaction au sérum anti-globuline est positive (+ +) sur les hématies de l'enfant. Les techniques de recherche des anticorps anti-A (enfant du groupe A) montrèrent la présence d'un anticorps pathologique anti-A au titre de 1.024, dont le rôle dans la genèse des accidents de l'enfant fut confirmé (la recherche des anticorps anti-Rh s'était avérée négative) :

1° Par élution de cet anticorps à partir des hématies sensibilisées de l'enfant;

2° Par l'étude suivie dans la circulation de l'enfant des hématies du donneur du groupe A. Ces hématies étaient toutes

détruites au bout de vingt-quatre heures (alors que la survie normale est de cent jours environ).

Le traitement par exsanguino-transfusion fractionnée fut entrepris avec du sang de donneur du groupe A (possédant l'antigène A) au lieu du groupe O (dépourvu de l'antigène A et compatible avec le groupe de l'enfant), ceci volontairement pour essayer de capter les anticorps pathologiques circulant, et dans l'espoir aussi de protéger les centres nerveux si ceux-ci n'avaient pas encore subi des lésions dégénératives trop importantes.

Evolution clinique très favorable : toutes les manifestations pathologiques étaient disparues au douzième jour.

Au point de vue biologique, on constata plusieurs faits :

a) Le test de Coombs devint négatif après la troisième substitution;

b) Les hématies des donneurs étaient détruites *in vivo* lors des deux premières substitutions;

c) Une anémie à 3 millions persista une dizaine de jours;

d) La substitution sanguine fut effectuée avec 300 cm^3 de sang volontairement choisi du groupe A, de façon à fixer les anticorps nocifs.

L'enfant était apparemment normal à l'âge de deux mois. Il a été suivi régulièrement par la suite : il a présenté des manifestations psycho-motrices de plus en plus sévères et mourut à l'âge d'un an.

Observation II

M^me^ De... Dans cette observation, ce sont les antécédents obstétricaux de la malade qui ont amené son médecin traitant à demander un bilan immunologique après avoir éliminé la possibilité d'une dysendocrinie.

Voici l'histoire des différentes grossesses :

Première grossesse en 1945 : avortement spontané à trois mois et demi.

Deuxième grossesse en 1947 : accouchement à terme d'un enfant vivant, bien portant. Au cours de cette grossesse, M^me^ De... a reçu une implantation de 100 mg de Progestérone.

Troisième grossesse en 1950 : avortement spontané à trois

mois et demi, en décembre 1950. Le dosage du prégnandiol, à un mois et demi, donna 8 mg, et à trois mois et demi, la veille de l'avortement, 8 mg.

Quatrième grossesse en 1952 : accouchement normal, à terme, d'un enfant vivant, bien portant.

Les recherches biologiques furent faites à l'issue de l'avortement survenu en 1950 et montrèrent :

a) *Père :* groupe B, type Rh-positif;

b) *Mère :* groupe O, type Rh-positif;

c) Les enfants vivants issus des grossesses de 1947 et de 1952 sont du groupe O (zéro);

d) La présence d'un anticorps anti-B immun, dont le titre était de 2.048 en février 1951, deux mois après l'avortement (méthode de Witebsky);

e) La présence d'un anticorps immun anti-B au titre de 64 unités, tout au long de la grossesse de 1952.

De cette observation, nous dégagerons deux faits :

1° Le premier, c'est que l'anticorps immun anti-B décelé présente un caractère particulièrement toxique puisqu'il tue l'œuf en tout début de grossesse;

2° Le deuxième, c'est que chaque fois que le fœtus a été du groupe O, les grossesses se sont déroulées sans incident et ont donné naissance à un enfant vivant bien portant. Ce fait caractéristique apporte un élément non négligeable dans le diagnostic de mort fœtale due à l'immunisation maternelle.

Observation III

Mme Ch... Il s'agit d'une cinquièmipare dont les antécédents obstétricaux sont lourdement grevés.

Première grossesse en 1949 : accouchement à terme d'un enfant vivant, bien portant.

Deuxième grossesse en 1950 : accouchement à terme d'un enfant décédé au vingt-deuxième jour, d'ictère grave hémolytique. L'ictère est apparu dès la naissance et dévoila, à son déclin, une pâleur impressionnante des téguments et des

muqueuses. Aucun traitement ne fut entrepris. A la suite de cette grossesse, la recherche des groupes et des types sanguins a été faite :

Père : groupe A, type M, Rh-négatif (cde/ce) ;

Mère : groupe B, type N, Rh-positif (cde/ce).

Troisième grossesse en 1951 (mai) : avortement de trois mois et demi.

Quatrième grossesse en 1951 (octobre) : avortement de deux mois et demi.

A la suite de ces deux accidents, un nouveau bilan hémato-immunologique a été demandé : il a révélé la présence d'un anticorps immun anti-A au taux de 16 unités (décelable en milieu colloïdal et par test indirect de Coombs).

Cinquième grossesse en 1952 : aucune surveillance immunologique n'a pu être effectuée au cours de cette grossesse. Au moment de l'accouchement, qui a eu lieu quinze jours avant terme, un examen biologique de la mère et de l'enfant a été pratiqué :

Taux des anticorps immuns anti-A dans le sérum maternel : 16 unités ;

Enfant : groupe A_1, type Rh-négatif (cde/ce) ;

Test de Coombs direct négatif ;

Anticorps libres dans le sérum : présence d'anticorps anti-A du type incomplet (actif en milieu colloïdal), au titre de 2 unités.

Bien que le test de Coombs direct fut négatif sur les globules de l'enfant, le diagnostic de maladie « cyto-toxique » du nouveau-né put être porté du fait de la présence dans le sérum de l'enfant de l'anticorps immun pathologique.

Il n'y avait à la naissance aucun signe clinique ni biologique d'hémolyse (pas d'ictère ; taux des hématies : 4.300.000 ; absence d'érythroblastose).

Il n'a pas été effectué de traitement par substitution sanguine, mais cet enfant a bénéficié de la thérapeutique hormonale par A. C. T. H. (*). Son comportement clinique et biolo-

(*) Le traitement de la maladie hémolytique et cyto-toxique du nouveau-né par l'hormone corticotrophique (A. C. T. H.) a été préconisé par J. Moulinier (« L'A. C. T. H. dans le traitement de la maladie hémolytique du nouveau-né » ; Congrès de la Transfusion sanguine, Alger, avril 1953) et par Soeters [31].

gique fut excellent. Il n'a développé ni ictère, ni anémie, ni hépato-splénomégalie, ni troubles nerveux.

Observation IV

M^me^ Di... Dans ce cas, les accidents d'immunisation sont moins précoces.

Première grossesse : accouchement à terme d'un enfant vivant, bien portant.

Deuxième grossesse : accouchement à terme d'un enfant vivant, bien portant.

Troisième grossesse : accouchement à terme d'un enfant vivant, bien portant.

Quatrième grossesse : accouchement à terme d'un enfant vivant, bien portant, d'aspect normal à la naissance, décédé à quatre mois dans des circonstances inconnues.

Cinquième grossesse : accouchement prématuré, à huit mois et demi, d'un enfant de 2 kg 600, qui a présenté un ictère cuivré précoce.

Le bilan immunologique de cette famille a été pratiqué pour la première fois au vingtième jour après la naissance du dernier enfant :

Mère : groupe O, Rh-négatif (cde/ce). Présence d'anticorps immuns anti-A (titre : 4.096 en milieu colloïdal). Absence d'anticorps anti-Rh;

Enfant : groupe A, Rh-positif. Test direct de Coombs négatif. Numération :

Hématies	2.830.000
Leucocytes	8.400
Erythroblastes	35 p. 100.

La recherche des anticorps immuns libres dans le sérum de l'enfant n'a pas été effectuée. Cet enfant a été soumis à un traitement par exsanguino-transfusion fractionnée : il fut effectué trois substitutions sanguines totalisant une injection de 190 cm^3^ de sang du groupe O, Rh-négatif et une soustraction de 120 cm^3^.

Sous l'effet de cette thérapeutique, l'anémie s'est rapidement réparée et l'évolution, tant clinique que biologique, fut satis-

faisante. Cet enfant, qui a actuellement deux ans, présente un comportement psycho-moteur tout à fait normal.

Observation V

Mme Da... Les antécédents obstétricaux de cette malade sont les suivants :

Première grossesse : accouchement à terme d'une fille vivante, bien portante.

Deuxième grossesse : accouchement à terme d'un enfant vivant, bien portant.

Troisième grossesse : avortement de trois mois et demi.

Quatrième grossesse : avortement de quatre mois et demi.

Cinquième grossesse : accouchement à terme d'un enfant présentant des troubles circulatoires et nerveux suggérant la possibilité d'une intoxication par anticorps immuns.

Les tests biologiques effectués chez cet enfant ont révélé : Groupe A, type Rh-positif; test direct de Coombs négatif.

Le bilan immunologique familial est le suivant :

Mère : groupe O, type Rh-négatif. Absence d'anticorps immuns anti-Rh. Présence d'anticorps immuns anti-A (titre 64 unités en milieu colloïdal) ;

Enfant n° 1 : groupe O, type Rh-positif;

Enfant n° 2 : groupe O, type Rh-positif.

L'enfant né de la cinquième gestation a bénéficié d'un traitement par substitution sanguine. En effet, au point de vue clinique, il apparut dès la naissance tour à tour cyanosé et pâle et, fait caractéristique, il présenta des troubles respiratoires alarmants (apnées). Il fut effectué deux substitutions sanguines à quelques heures d'intervalle, totalisant une injection de 120 cm^3 de sang du groupe O et une soustraction de 120 cm^3. A la fin de la deuxième transfusion, l'enfant meurt au cours d'une crise d'apnée.

Une *sixième grossesse* est actuellement en cours. La malade est suivie au point de vue biologique et l'on constate, au sixième mois, que le taux des anticorps immuns n'a pas varié. Il semblerait que le fœtus actuel soit compatible avec sa mère.

Observation VI

M^me^ Fa... Dans ce cas, les accidents sont très précoces, chez une femme ayant reçu, avant toute grossesse, une transfusion sanguine dont les caractéristiques biologiques n'ont pu être retrouvées.

Première grossesse en 1949 : avortement de deux mois.

Deuxième grossesse en 1950 : avortement de deux mois.

Troisième grossesse en 1951 : avortement de quatre mois et demi, fœtus mort et macéré.

Quatrième grossesse actuelle : le bilan immunologique, au troisième mois de cette grossesse, est le suivant :

M. F... : groupe A, type Rh-positif;

M^me^ F... : groupe O, type Rh-positif. Présence d'un anticorps immun anti-A (titre 128 unités en milieu colloïdal).

En avril 1953, accouchement à terme d'un enfant vivant, bien portant. Dès la naissance, une détermination du groupe sanguin de l'enfant montre qu'il appartient au groupe O (zéro). Aucune manifestation cyto-toxique ne pouvait donc survenir du fait de l'absence, chez cet enfant, de l'antigène A sensible à l'anticorps élaboré par la mère. Il est à noter que cet anticorps immun à traversé le placenta et qu'il est trouvé dans le sérum de l'enfant au taux de 128 unités, comme si un équilibre s'était établi entre les deux circulations, fœtale et maternelle, à travers la « barrière » placentaire.

B. — Conclusions

L'étude de ces observations permet de dégager quelques considérations d'ordre clinique :

a) *L'atteinte fœtale.* — Lorsque l'atteinte fœtale survient, elle est toujours *précoce*. En effet, la mortalité globale relevée dans les six observations que nous avons présentées atteint 13 enfants sur 21 grossesses incompatibles. Parmi ces 13 accidents, 10 d'entre eux relèvent d'avortements survenus entre deux et quatre mois de grossesse;

b) *L'atteinte néo-natale.* — Lorsque l'enfant naît vivant,

les manifestations pathologiques dues aux anticorps immuns anti-A ou anti-B ne sont pas toujours superposables aux accidents hémolytiques dus aux anticorps anti-Rh. En effet, il apparaît que le syndrome hémolytique est le plus souvent *discret, d'apparition plus tardive et d'évolution souvent inexorable.*

D'autre part, nous voudrions dégager un fait d'ordre biologique : dans les six cas où nous avons pu mettre en évidence une immunisation anti-A ou anti-B, on décèle trois femmes Rh-négatif, trois femmes Rh-positif. L'étude de la littérature concernant les immunisations A-B-O nous a montré la fréquence élevée du nombre de femmes immunisées dans ce système de groupe, tout en étant du type Rh-négatif (on peut estimer le pourcentage à environ 50 %). Ce fait ne semble pas être dû à ce que les anticorps immuns ont été plus spécialement détectés au cours d'un dépistage Rh prénatal. La question reste entière de savoir s'il existe un rapport entre cette fréquence élevée de femmes Rh-négatif et l'état d'immunisation anti-A ou anti-B.

Enfin, bien que cela sorte du cadre de notre étude, nous voudrions signaler les heureux résultats obtenus par l'exsanguino-transfusion fractionnée dans le traitement du syndrome cyto-toxique dû aux anticorps A-B-O.

II. — ÉTUDE BIOLOGIQUE

Les sérums pathologiques prélevés chez les femmes enceintes ou récemment accouchées, dont l'histoire pathologique vient d'être décrite, ont été soumis aux tests biologiques révélateurs d'une immunisation anti-A ou anti-B. Nous avons poursuivi notre étude par des recherches portant sur des modifications des techniques antérieurement proposées ou par des techniques nouvelles, dans l'espoir de mettre au point un test biologique simple et spécifique, permettant un travail de routine en vue du

dépistage systématique des iso-immunisations dans le système de groupe A-B-O.

A. — Les tests classiques

Nous avons réalisé pour chacun des sérums suspects les tests de Witebsky, de Wiener, de Boorman et Dodd, et de Hubinont. Le tableau comparatif (tableau VII) des résultats obtenus met en évidence les faits suivants :

a) Dans tous les cas, le test de Witebsky a été positif (agglutination des hématies témoins en milieu colloïdal après destruction de l'agglutinine normale par les substances groupes) ;

b) Dans tous les cas, le test de Wiener a été positif (agglutination des hématies témoins en milieu colloïdal après destruction des agglutinines normales par le chauffage à 63° pendant une demi-heure) ;

c) La technique de Boorman et Dodd a été très infidèle. Elle fut négative dans la plupart des cas, ne se révélant que douteuse dans deux cas (Mmes De... et Du...) ;

d) Le test de Hubinont n'a été exécuté que dans trois cas. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau VIII.

Il ressort de ces résultats que le test de l'optimum thermique est satisfaisant, malgré la difficulté de sa lecture.

B. — Modifications des techniques

Sachant que les sérums des cas précédemment exposés possédaient un anticorps immun du système de groupe A-B-O, nous avons cherché à simplifier les techniques classiques.

1° *Modifications portant sur la technique de Witebsky*

a) *Le milieu colloïdal.* — Pour détecter la présence des anticorps immuns monovalents, il a été proposé (comme nous l'avons déjà exposé) de nombreux milieux de suspen-

TABLEAU VII

COMPARAISON DES RÉSULTATS OBTENUS DANS DEUX CAS PATHOLOGIQUES, PAR LES DIVERSES TECHNIQUES DE DÉTECTION DES ANTICORPS DU SYSTÈME A-B-O

SÉRUMS IMMUNS	TECHNIQUE DE WITEBSKY		TECHNIQUE DE WIENER		TECHNIQUE DE BOORMAN-DODD		TECHNIQUE DE HUBINONT
	Milieu salin	Milieu colloïdal	Milieu salin	Milieu colloïdal	Milieu salin	Milieu colloïdal	Lecture après deux heures
Sérum De... anti-B	0	64	0	32	0	1 (±)	512
Sérum Du... anti-A	0	128	0	128	0	1 (±)	2.048

sion présentant tous un caractère commun : leur *état colloïdal*. Dans le cas de la détection des anticorps immuns du système de groupe A-B-O, il semble inopportun d'utiliser comme milieu de suspension le sérum provenant d'un sujet du groupe A B (sérum neutre). En effet, si ce sérum ne contient aucune agglutinine « parasite » anti-A ou anti-B, il a été montré (Moss [22], Schiff [30]) que ce sérum contenait, à l'état dissous, les antigènes A ou B. Il en est de même pour les sérums des sujets du groupe A ou B qui pourraient être utilisés comme milieu de suspension d'hématies A ou d'hématies B respectivement. La présence de cet antigène dissous peut être une cause d'erreur dans les tests de détection de l'anticorps immun anti-A ou anti-B, car il pourrait détruire l'anticorps suspecté avant que la réaction d'agglutination n'ait pu se produire. L'albumine bovine qui est utilisée couramment dans les tests de détection de l'anticorps anti-Rh, ne nous a jamais donné satisfaction pour la recherche des anticorps immuns du système A-B-O. En effet, suspendues dans ce milieu, les hématies témoins sont difficilement agglutinables et les réactions sont toujours douteuses. Nous avons cherché, mais sans résultat, à expliquer ce phénomène. Le mélange classique d'une partie d'albumine bovine et de trois parties de sérum humain n'a pas donné, entre nos mains, de résultats meilleurs.

Nous nous sommes adressé alors à un autre milieu colloïdal : le *dextran*. Les travaux de Bonnel [2] ont montré la valeur du dextran comme milieu de suspension des hématies témoins dans la recherche des anticorps anti-Rh. Nous avons appliqué cette technique à la recherche des anticorps immuns anti-A et anti-B et avons constaté que les réactions d'agglutination s'en trouvaient extrêmement améliorées.

b) *Le titrage des agglutinines et des anticorps immuns.* — Nous avons pensé que l'on pouvait simplifier la technique classique de Witebsky en évitant le titrage des agglu-

TABLEAU VIII

Test de Hubinont (optimum thermique)

	Dilutions		1/2	1/4	1/8	1/16
Sérum De...	Lecture après une demi-heure	4°	++++	++++	++++	+++
		37°	++++	++++	++++	+++
	Lecture après deux heures	4°	++++	++++	++++	+++
		37°	++++	++++	++++	+++
Sérum Da...	Lecture après une demi-heure	4°	++++	++++	+++	+
		37°	++++	+++	+	—
	Lecture après deux heures	4°	++++	++++	++++	+
		37°	++++	++++	++++	+++
Sérum Du...	Lecture après une demi-heure	4°	++++	++++	++++	++++
		37°	++++	++++	++++	++++
	Lecture après deux heures	4°	++++	++++	++++	++++
		37°	++++	++++	++++	++++

TAPPLIQUÉ DANS TROIS CAS PATHOLOGIQUES

1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1.024	1/2.048	1/4.096
++++	++++	++++	(+)	—	—	—	—
++++	++++	++++	+++	++	(+)	—	—
++++	+++	(+)	—	—	—	—	—
++++	++++	++++	+++	++	(+)	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
++	++	(±)	—	—	—	—	—
++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—
++++	++++	++++	++++	+++	++	(+)	—
++++	++++	++++	++++	+++	++	—	—
++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	—

tinines naturelles et des anticorps immuns lors des tests de dépistage en série. Pour cela, nous avons effectué les réactions avec quatre tubes :

— Dans le tube 1 étaient placées 1 goutte de sérum brut et 1 goutte de suspension globulaire à 2 p. 100 en eau physiologique;

— Dans le tube 2 étaient placées 1 goutte de sérum brut et 1 goutte de suspension globulaire en dextran;

— Dans le tube 3 étaient placées 1 goutte de sérum neutralisé par substances groupes et 1 goutte de suspension globulaire en eau physiologique;

— Dans le tube 4 étaient placées 1 goutte de sérum neutralisé par substances groupes et 1 goutte de suspension globulaire en dextran.

Ainsi, les tubes 1, 2 et 3 constituent des témoins (tube 1, témoin positif : présence d'agglutinines naturelles dans le sérum brut; tube 2, témoin positif : idem; tube 3, témoin négatif : il contrôle la neutralisation des agglutinines naturelles) ; le tube 4 représente le *test :*

— S'il est *négatif : absence d'anticorps immuns;*

— S'il est *positif : présence d'anticorps immuns.*

Ce test à « quatre tubes » réalise le dépistage de l'anticorps immun. Lorsqu'une réaction positive est découverte dans le tube 4, il est alors effectué la technique de Witebsky *in extenso* (titrage de l'agglutinine naturelle, titrage de l'anticorps immun).

Nous avons constaté que ce test à « quatre tubes » ne donnait pas, en suivant les normes établies par Witebsky pour la neutralisation du sérum, un témoin 3 toujours parfaitement négatif, c'est-à-dire que la neutralisation des agglutinines régulières par mélange à parties égales de sérum et de substances groupes était insuffisante dans de nombreux cas. Après divers essais portant sur 129 sérums suspects, nous avons trouvé que le mélange de cinq parties de sérum avec sept parties de substances groupes réalisait dans la majorité des cas une neutralisation satisfaisante

des agglutinines anti-A ou anti-B, sans porter atteinte aux anticorps immuns, si faibles soient-ils.

2° *Modifications portant sur la technique de Wiener*

Le chauffage à 63° pendant une demi-heure, tel qu'il a été défini par Wiener dans sa technique originale, nous est apparu insuffisant pour neutraliser complètement les agglutinines régulières. Ainsi, si la technique de Wiener est utilisée dans un test de dépistage systématique, elle fournit de nombreux résultats faussement positifs. Nous avons donc cherché à modifier de deux façons différentes cette technique :

a) *Modifications portant sur le temps de chauffage.* — Nous avons adopté une durée de chauffage d'une heure à 63°. Nous avons constaté, à la suite de cette modification, que de nombreux sérums qui s'étaient révélés antérieurement positifs par la technique classique de Wiener et par la technique de Witebsky ne présentaient alors plus d'anticorps immuns. Lorsque cette technique modifiée a été appliquée à des sérums authentiquement pathologiques, nous avons pu constater que, sous l'effet de ce chauffage trop long, l'anticorps immun était détruit. Cette modification a dû être abandonnée.

b) *Modifications portant sur le sérum expertisé.* — Au lieu d'utiliser du sérum brut et craignant que la technique de Wiener ne laisse déceler des sérums faussement positifs, nous avons soumis au chauffage à 63° pendant une demi-heure des sérums déjà neutralisés par les substances groupes. Dans la plupart des cas, il y a eu concordance entre les résultats obtenus avec la technique de Wiener et ceux obtenus par une telle association des deux techniques de Witebsky et de Wiener.

3° *Modifications portant sur la technique de Boorman et Dodd*

Ayant constaté que le chauffage à 75° du sérum brut dilué de moitié était totalement « inactivé », au sens agglutinologique du mot, nous avons pensé qu'une surveillance périodique du sérum traité au cours de ce chauffage serait susceptible de mettre un anticorps immun en évidence. Dans ce but, nous avons prélevé, toutes les deux minutes, un échantillon du sérum soumis au chauffage à 75° et nous l'avons testé vis-à-vis de globules témoins mis en suspension saline et en suspension colloïdale (dextran). Les résultats en ont été exposés dans le tableau VI (voir p. 36).

Il ressort de cette expérience que l'anticorps immun peut être détecté par sa résistance plus grande au chauffage. Cependant, cette technique ne peut être utilisée dans un test de routine, car elle nécessite une surveillance constante, difficile à réaliser lorsque plusieurs dizaines d'échantillons de sérums sont expertisés. La modification que nous avons apportée à la technique de Boorman et Dodd nous paraît cependant être utile à titre de confirmation, lorsqu'un anticorps immun a été détecté par une des méthodes précédentes.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

I. — La découverte des immunisations fœto-maternelles dans le système sanguin Rhésus a incité les biologistes à rechercher l'éventualité de tels conflits immunologiques dans le système de groupe A-B-O.

La difficulté de telles recherches vient de la présence, chez un individu du groupe O, des agglutinines régulières anti-A et anti-B, et chez les individus du groupe A ou du groupe B, des agglutinines soit anti-B, soit anti-A. Ces agglutinines masquent la présence de l'anticorps immun de même spécificité qui peut être né sous l'effet d'une sollicitation antigénique A ou B.

II. — Certains caractères biologiques propres aux anticorps immuns permettent de déceler dans un sérum suspect leur présence. Ce sont : leur nature « incomplète », leur caractère « bloquant », leur thermostabilité et leur pouvoir hémolytique.

III. — Basées sur ces caractères biologiques, cinq méthodes de détection ont été proposées : les unes, pour ne laisser que l'anticorps incomplet, éliminent l'agglutinine régulière, soit par neutralisation avec les substances groupes (Witebsky), soit par destruction par le chauffage tantôt à 63° (Wiener), tantôt à 75° (Boorman et Dodd) ; les autres laissent subsister l'agglutinine régulière mais cherchent à mettre en évidence certains caractères propres aux anticorps immuns : optimum thermique (Hubinont) ; action hémolytique (Dacie).

IV. — La mise en œuvre de ces diverses techniques soulève de nombreuses critiques : difficulté de réalisation pratique due aux multiples titrages; destruction concomitante de l'anticorps immun, s'il est faible, et de l'agglutinine régulière (technique de Witebsky, technique de Wiener, technique de Boorman et Dodd).

V. — Un essai de dépistage systématique, portant sur 261 sérums pris au hasard sur des femmes enceintes ou récemment accouchées de la Clinique Obstétricale de la Faculté de Médecine de Bordeaux, nous a démontré la discordance entre les résultats cliniques et les résultats biologiques : ou bien il y a présence d'anticorps immuns mais absence d'antécédents pathologiques, ou bien il y a présence d'antécédents pathologiques et absence d'anticorps immuns; dans certains cas, enfin, une certaine concordance peut être notée avec présence d'anticorps immuns et d'antécédents pathologiques.

On peut déduire de ces faits que :

a) Les moyens d'investigation que nous possédons sont encore insuffisants et sans doute très primitifs. Ceci nous incline à penser qu'un processus immunologique ne doit pas être exclu des cas cliniquement suspects parce que l'anticorps, agent pathologique, n'est pas décelé;

b) Qu'il est vraisemblable que les sérums traités selon la méthode de Witebsky, la méthode de Wiener, la méthode de Boorman et Dodd, acquièrent des propriétés biologiques artificielles sous l'effet soit des substances groupes A et B, soit du chauffage;

c) Que l'anticorps décelé n'a pas toujours un pouvoir pathogène. Ce fait semblerait dû à la possibilité d'une immunisation de la mère sous l'effet d'un antigène A différent de l'antigène A fœtal.

VI. — L'étude de six cas pathologiques dans lesquels l'immunisation maternelle anti-A ou anti-B est très vraisemblablement la cause des accidents fœtaux ou néonataux nous a montré que :

a) Les accidents pathologiques peuvent survenir dès la première grossesse;

b) Ces accidents revêtent souvent la forme d'avortement précoce;

c) L'anticorps immun anti-A ou anti-B est plus toxique que l'anticorps anti-Rh, donnant non seulement des accidents précoces au cours de la gestation, mais aussi, si le fœtus arrive à terme, des accidents nerveux fréquents (ictère nucléaire);

d) Le syndrome « ictère-anémie » est relativement rare, comme si l'anticorps immun du système de groupe A-B-O avait une action plus cyto-toxique qu'hémolytique;

e) Le traitement par substitution sanguine (exsanguino-transfusion fractionnée) semble devoir apporter des résultats aussi heureux que le traitement des accidents hémolytiques dus à l'anticorps anti-Rh. Dans le cas des immunisations A-B-O, la substitution sanguine doit être faite avec du sang de groupe O dont les agglutinines naturelles anti-A et anti-B du donneur auront été détruites par substances groupes A-B-O ou éliminées par mise en suspension des globules O dans un plasma compatible avec le sang de l'enfant.

VII. — Dans cette étude, nous avons cherché à réaliser un test de dépistage prénatal des immunisations anti-A et anti-B. Dans ce but, nous avons proposé une simplification de la méthode de Witebsky par une méthode à « quatre tubes ». Mais cette méthode, si elle revêt les caractères de simplicité et de rapidité qu'exige une technique de dépistage, n'échappe pas aux critiques que nous avons formulées sur les tests de détection des immunisations

A-B-O. De plus, la rareté des accidents péri-nataux liés à ces immunisations et l'insuffisance de nos connaissances immunologiques sur le mécanisme de ces affections, nous inclinent à conclure à l'inutilité d'un dépistage des immunisations A-B-O.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu :

Le Doyen,

G. PORTMANN.

Vu, bon à imprimer :

Le Président,

M. RIVIÈRE.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 15 Avril 1953.

Le Recteur,

E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

1. Allen (W. M.). — Interagglutination of maternal and fœtal blood in the late toxemias of pregnancy. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1926, **38**, 217.
2. Bonnel (P. H.). — Emploi du dextran pour la recherche des anticorps Rh univalents. *Rev. Hémat.*, 1951, t. **6**, n° 1, p. 95.
3. Boorman (K. E.) & Dodd (B. E.). — An incomplete form of agglutinin. *Nature*, London, 1946, **158**, 589.
4. Coombs (R. R. A.), Mourant (A. E.) & Race (R. R.). — *Lancet*, 1945, vol. 2, **15**.
5. Cutbush, Marie, Mac Kay, Margaret (E.) & Mollison (P. L.). — Blood Groups in Man. 1950, impublished observations.
6. Dacie (J. V.). — Hemolysins in acquired hemolytic anemia. Effect of *p*H on the activity *in vitro* of a serum hemolysin. *Blood*, 1949, **4**, 928.
7. Darrow (R. R.). — Icterus gravis (erythroblastosis) neonatorum. *Arch. Path.*, mars 1938, **25**, 378.
8. Dausset (J.) & Vidal (G.). — Accidents de la transfusion chez des receveurs du groupe A ayant reçu du sang du groupe O. Rôle de la vaccination par anatoxine diphtérique et tétanique. *Le Sang*, 1951, n° 6, p. 478.
9. Dienst (A.). — Eclampsia. Further studies. *Zentralbl. f. Gynäk.*, 1905, **29**, 353.
10. Ervin (D. M.) & Young (L. E.). — Dangerous universals donors. I. Observations on destruction of recipient's A cells after transfusion of group O blood containing high titer of A antibodies of immune type not easily neutralizable by soluble A substance. *Blood*, 1950, **5**, 61.
11. Gruzhit (O. M.). — Toxemias of pregnancy from a new angle. *Am. J. Obst. and Gynec.*, 1923, **5**, 400; Eclampsia : is it a biological necessity ? *Ibid.*, 1924, **7**, 588.
12. Hirszfeld (L.). — Serologic and blood group investigation. Berlin, Julius Springer, 1928.
13. Hubinont (P. O.). — Contribution à l'étude biologique de l'immunisation inter-humaine. Recherches sur l'optimum

thermique des agglutinines d'immunisation et sur les activités « bloquantes » des immunsérums. Editions J. Duculot, S. A. Gembloux, 1952.

14. Johnsson (B.). — On the question of hetero-specific pregnancy. *Acta Path. and Microbiol. Scandinav.*, 1926, **13,** 424.
15. Levine (P.), Burnham (L.), Katzin (E. M.) & Vogel (P.). — The role of iso-immunization in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis. *Am. J. Obst. and Gynec.*, décembre 1941, **42,** 925.
16. Mac Quarrie (I.). — Isoagglutination in newborn infants and their mothers. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1923, **34,** 51.
17. Mahon (R.) & Moulinier (J.). — Réflexions sur la pathogénie et le traitement des accidents d'incompatibilité Rh chez le nouveau-né. *Gyn. et Obst.*, 1949, t. **48,** n° 3, pp. 299-303.
18. Mendes de Leon. — Serologisch Onderzoeck bij haemolytische anaemieen. *Bulletin van het Centraal Laboratorium van de Bloed transfusiedienst van het Nederlandse Rode Kruis*, 2e Jaargang, décembre 1952, n° 6.
19. Millet (M.) & Hubinont (P. O.). — Sur un caractère différentiel des agglutinines naturelles et des agglutinines d'immunisation. *Ann. Inst. Pasteur*, novembre 1950, n° 1136, t. **79,** p. 737.
20. Mollison (P. L.). — Blood transfusion in clinical medecine. Blackwell scïentific publications, Oxford, 1951.
21. Morton (J. A.) & Pickles (M. M.). — *Nature*, London, 1947, **159,** 779.
22. Moss (W. L.). — *Folio. Sérol.*, 1910, **5,** 267 (cité par Wiener [36]).
23. Moulinier (J.). — Essai d'interprétation physio-pathologique de la maladie dite « hémolytique » du nouveau-né. *Montpellier Médical*, novembre 1952, n° 9.
24. Murray (H. L.). — The hemotoxic nature of eclampsia, with an account of the fœtal and placental hemolysins and an experimental investigation into the anaphylactic theory of eclampsia. *J. Obst. and Gynaec. Brit. Emp.*, octobre 1910, **18,** 225.
25. Ottenberg (R.). — The etiology of eclampsia. *J. A. M. A.*, 1923, **81,** 295.
26. Paroli (G.). — Parental incompatibility in the pathogenesis of abortion. *Riv. Ital. di Gynec.*, 1928, **7,** 388.
27. Pautrizel (R.). — Recherches sur la genèse et la réactivité des anticorps. Bordeaux, 1948, imprimerie E. Drouillard.
28. Pons (R.). — Anticorps complets et anticorps incomplets. Rapports présentés aux Journées Méditerranéennes de Transfusion sanguine et de Recherches hématologiques, Nice, Cannes, San-Remo, 11, 12 et 13 mai 1951, pp. 17-25.

29. Race (R. R.) & Sanger (R.). — Blood groups in Man. Blackwell scientific publications, Oxford, 1950.
30. Schiff (F.). — Uber gruppenspezifische serumprecipitine. *Klin. Woch.*, 1924, **1**, 679-680.
31. Soeters (J. M.). — A. C. T. H. en haemolutische ziekte van de pasgeborne. *Bull. van de Bloedtrans.*, septembre 1952, n° 4.
32. Van Loghem (J. J.). — L'iso-immunisation maternelle due à l'antigène A ou B. Rapports et communications du IX[e] Congrès International de Transf. sang., Lisbonne, 1951. *Exp. scien. franç.*, pp. 302-312.
33. Van Loghem (J. J.), Hart (M. V. D.) & Paulussen (A. M. H.). — Quelques considérations sur la pathogénie de la maladie hémolytique du nouveau-né, en particulier sur le mécanisme sérologique de l'iso-immunisation par les antigènes A et B. *Rev. Hém.*, 1950, t. **5**, n[os] 3-4, p. 371.
34. Wiener (A. S.), Sonn (E. B.) & Hurst (J. G.). — Illustrative cases histories of A B sensitivation. Wiener Laboratory, 15 juillet 1946, I.
35. Wiener (A. S.). — Permeability of the human placenta to iso-antibodies. *The J. of Lab. a. Clin. Med.*, Saint-Louis, septembre 1946, vol. 31, n° 9, pp. 1020-1024.
36. Wiener (A. S.). — Blood groups and Transfusion, 3[e] édition, p. 294. Thomas, springfield.
37. Wiener (A. S.). — Hemolytic reactions following transfusions of blood of homologous groups : Further observations on the role of proprity Rh, particularly in eases without demonstrable isoantibodies. *Arch. Path., août* 1941, **32**, 227.
38. Wiener (A. S.). — Un nouveau test (test bloquant) pour la sensibilisation Rh. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 1944, **56**, 173-176.
39. Wiener (A. S.). — Subdivisions of group A and group A B. II. Iso-immunisation of A_2 individuals against A_1 blood; with special reference to the role of the subgroups in transfusion reactions. *Journ. Immunol.*, 1941, **41**, 181.
40. Wiener (A. S.), (M. D.), Hurst (Jane G.) & Sonn-Gordon (Eve B.). — Studies of the conglutination reaction, with special reference to the nature of conglutinin. *The Journ. of Exp. Med.*, 1[er] octobre 1947, vol. 86, n° 4, pp. 267-284.
41. Witebsky (E.). — Interrelationship between the Rh system and the A B system. *Blood*, 1948, **3**, 66.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 9

CHAPITRE PREMIER. — LES CRITÈRES BIOLOGIQUES DE L'IMMUNISATION MATERNELLE DANS LE SYSTÈME DE GROUPE A. B. O... 13

I. — Caractères biologiques des anticorps immuns 14
a) Ce sont des anticorps « incomplets » 14
b) Ce sont des anticorps « bloquants » 14
c) Les anticorps immuns sont « thermostables » 15
d) Amplitude thermique 15
e) L'anticorps immun présente des « caractères hémolytiques » 15

II. — Principes généraux de détection des anticorps immuns anti-A et anti-B 16
a) Méthodes basées sur l'élimination de l'agglutinine régulière 16
b) Méthodes basées sur les caractères différentiels des agglutinines et des anticorps immuns 17

CHAPITRE II. — ESSAIS DE DÉPISTAGE SYSTÉMATIQUE DES IMMUNISATIONS ANTI-A ET ANTI-B 19

I. — Exposés des techniques. — Critiques 19
a) Méthode de Witebsky 20
b) Méthode de Wiener 25
c) Méthode de Boorman et Dodd 26
d) Méthode de Hubinont 27
e) Méthode de Dacie : recherche des hémolysines.. 29

II. — Résultats 29
a) Résultats statistiques 30
b) Interprétation 32

CHAPITRE III. — ETUDE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DES CAS PATHOLOGIQUES 42

Pages

I. — Etude clinique 42
a) Observations 43
b) Conclusions 49

II. — Etude biologique 50
a) Les tests classiques 51
b) Modifications des techniques 51

Conclusions générales 59

Bibliographie 63

Bordeaux. — Imp. E. Drouillard, place de la Victoire, 3.